

L'horloge biologique est-elle au centre du processus de vieillissement ? Études chez un primate non humain

Fabien Pifferi, Fabienne Aujard et Martine Perret

UMR CNRS-MNHN 7179 MECADEV, 1 avenue du Petit Château, 91800 Brunoy, France

Auteur correspondant : Fabien Pifferi, pifferi@mnhn.fr

Reçu le 18 novembre 2014

Résumé – Au cours du vieillissement, la capacité des organismes à s'adapter à leur environnement est altérée. Chez l'Homme, les troubles liés à l'âge incluent l'apparition de perturbations des rythmes biologiques, notamment des rythmes veille/sommeil, des rythmes de température corporelle et de sécrétion d'hormones. L'altération des rythmes biologiques avec l'âge peut avoir des conséquences majeures sur la santé, notamment du fait de l'altération des rythmes veille-sommeil qui entraîne une forte altération de l'état général des individus. L'étude de ces altérations constitue de ce fait un enjeu de santé majeur et nécessite l'utilisation de modèles animaux appropriés, tels que le microcèbe (*Microcebus murinus*), un petit primate malgache aux rythmes biologiques très prononcés.

Mots clés : Horloge biologique / microcèbe (*Microcebus murinus*) / période endogène / photopériode / vieillissement

Abstract – Is the biological clock central to the aging process? Studies in a non-human primate.

The ability of organisms to adapt to their environment during aging is altered. Age-related disorders in Human include disturbances of biological rhythms, especially sleep-wake rhythms alterations, and perturbations of body temperature and hormone secretion. The alteration of biological rhythms with age leads to major health consequences, particularly due to the alteration of sleep-wake rhythms that causes a strong alteration of the general condition. The study of these changes is therefore a major health issue and requires the use of appropriate animal models such as the grey mouse lemur (*Microcebus murinus*), a small Madagascar primate with very pronounced biological rhythms.

Key words: Biological clock / grey mouse lemur (*Microcebus murinus*) / endogenous period / photoperiod / aging

Introduction

Tout au long de la vie, une série de changements physiologiques et morphologiques transforme progressivement des individus jeunes adultes en bonne santé en adultes âgés présentant un risque accru d'apparition de handicaps et de pathologies invalidantes voire mortelles. Le processus de vieillissement, observé chez la très grande majorité des organismes vivants, est

un phénomène biologique complexe qui mérite d'être

mieux compris notamment à des fins thérapeutiques chez l'Homme. Dans le contexte de la recherche sur le vieillissement, les primates non humains constituent un meilleur modèle du vieillissement humain que ne le sont les modèles classiques tels que les rongeurs (Lavery, 2000), et ce pour deux raisons : ils partagent de nombreuses similarités génétiques, physiologiques et anatomiques avec l'Homme et ils permettent de



Fig. 1. Un microcèbe adulte sur une branche. Crédit photo : Pauline Vuarin-UMR CNRS/MNHN 7179.

mimer l'hétérogénéité observée dans les populations humaines, ce que ne permettent pas les modèles transgéniques notamment. Enfin, ils peuvent être étudiés en conditions expérimentales contrôlées plus facilement que chez l'Homme. Parmi les modèles de primates non humains disponibles en recherche biomédicale, une espèce se distingue par son petit poids (60–120 g), facilitant son élevage et sa manipulation et, paradoxalement, sa grande longévité : le microcèbe (*Microcebus murinus*, figure 1), un petit primate prosimien originaire de Madagascar. Au sein de la colonie de Brunoy, la survie médiane (temps auquel la moitié d'une population donnée est décédée) est de 4,9 ans pour les femelles et 5,7 ans pour les mâles (Languille *et al.*, 2012). À partir de l'âge de 6 ans, des modifications morphologiques indiquent le vieillissement : blanchissement des poils de la face, du ventre et du dos, raccourcissement du museau, et épaississement des bords des oreilles.

Sa longévité implique que le vieillissement chez cette espèce peut être observé bien plus rapidement que chez les autres primates (tel que le macaque rhésus qui vit environ 35 ans), tout en permettant des études sur le vieillissement à long terme plus pertinentes que les rongeurs. En effet, le microcèbe présente une longévité deux à trois fois supérieure à celle des rongeurs de même poids (Stuart & Page, 2010), ce qui en fait un excellent modèle pour étudier les questions clés du processus de vieillissement. Enfin, le microcèbe est une espèce fortement dépendante de la photopériode, qui exprime des rythmes saisonniers très marqués en réponse à l'alternance saisonnière des jours longs (>12 h) et des jours courts (<12 h) (Aujard *et al.*,

2006). Ces rythmes se caractérisent notamment en saison de jours courts par des épisodes d'hypothermie journalière (torpeur) au cours desquels la température corporelle chute jusqu'à un minimum lors de la phase de repos diurne (Génin *et al.*, 2003; Terrien *et al.*, 2010).

Altération des rythmes biologiques au cours du vieillissement chez l'humain

Le vieillissement est associé à des changements d'amplitude et d'organisation temporelle de nombreux rythmes journaliers ou saisonniers. Les rythmes biologiques, dont l'altération survient généralement de façon précoce, constituent de fait un bon marqueur du processus de vieillissement. Chez la personne âgée, l'alternance des rythmes veille/sommeil en particulier est perturbée et se traduit par l'apparition de périodes d'activité lors des phases de repos nocturne et de phases de sommeil lors des périodes d'activité diurne (phénomène de fragmentation du rythme). Ces perturbations des rythmes s'accompagnent notamment de troubles de l'humeur (symptômes dépressifs) qu'il est possible de traiter par luminothérapie. Une étude a démontré qu'un traitement par luminothérapie chez des personnes âgées présentant des symptômes dépressifs entraîne une restauration partielle des rythmes veille/sommeil et améliore l'humeur ainsi que la qualité du sommeil (Lieveise *et al.*, 2011). Les rythmes biologiques constituent donc un élément fondamental dans le processus de vieillissement.

Altération des rythmes biologiques au cours du vieillissement chez le microcèbe

Les perturbations des rythmes biologiques observées chez l'Homme se retrouvent chez le microcèbe. Espèce nocturne, le microcèbe a la particularité d'exprimer des rythmes biologiques très marqués avec une activité locomotrice importante la nuit et un repos quasi-complet le jour. La lumière est un indicateur très important : cette espèce présente une activité locomotrice principalement la nuit, et ce, quelle que soit la durée du jour. En condition de lumière constante, l'activité locomotrice est quasiment absente. La lumière exerce donc un effet inhibiteur puissant sur ce paramètre (Perret & Aujard, 2001). En condition d'obscurité constante, dite de « libre cours », les rythmes de température corporelle et d'activité locomotrice présentent une période endogène inférieure à 24 h (Perret & Aujard, 2001).

Comme chez l'Homme, les rythmes d'activité/repos se fragmentent avec l'âge chez le microcèbe, avec notamment une augmentation de l'activité locomotrice pendant la période de repos diurne (figure 2). Si l'on compare les rythmes d'activité d'animaux adultes (2 à 4 ans) et âgés (5 ans et plus), on observe une diminution significative de l'amplitude des rythmes chez ces derniers, avec une diminution de l'activité nocturne et une augmentation de l'activité diurne (Cayétanot *et al.*, 2005). Le vieillissement chez le microcèbe s'accompagne également d'une diminution de la durée de la période endogène, qui passe en moyenne de 23,5 h chez les adultes à 22,8 h chez les animaux âgés. Ces changements, qui interviennent même en condition d'obscurité constante, suggèrent une modification affectant les gènes de l'horloge, qui régulent l'expression des rythmes.

L'horloge centrale est localisée dans les noyaux supra-chiasmatisques (NSC), dont les oscillations sont entraînées essentiellement par la lumière. Cette dernière est tout d'abord transmise depuis l'œil vers l'hypothalamus *via* le tractus rétino-hypothalamique, qui se termine dans la partie inférieure des NSC où sont localisées des populations spécifiques de neurones qui communiquent entre elles par la sécrétion de peptides et de protéines. Ces neurones participent au contrôle de la rythmicité circadienne en transmettant notamment l'information lumineuse à des cibles situées dans d'autres régions du cerveau, permettant ainsi l'expression de rythmes biologiques spécifiques tels que le rythme veille-sommeil. Parmi ces neurones, on distingue ceux synthétisant le peptide vaso-actif intestinal (VIP pour *Vasoactive Intestinal Peptide*) et ceux synthétisant la calbindine. Les neurones à VIP communiquent avec d'autres populations situées dans la partie dorsale du NSC, dont les neurones synthétisant l'arginine-vasopressine (AVP). Au cours

du vieillissement, ces trois populations neuronales sont affectées, ce qui modifie la synthèse de VIP, d'AVP et de calbindine, dont les pics d'excrétion chez les animaux âgés sont soit décalés dans le temps, soit diminués en amplitude (Cayétanot *et al.*, 2007). Ces changements indiquent que la capacité des NSC à transmettre l'information rythmique aux autres cibles neuronales est altérée au cours du vieillissement, affectant ainsi l'expression d'une partie des rythmes biologiques.

La sécrétion saisonnière et journalière de plusieurs hormones est également affectée au cours du vieillissement. C'est le cas notamment de la sécrétion saisonnière d'hormones sexuelles telles que la testostérone et de facteurs de croissances tels que l'IGF (*Insulin-like Growth Factor*) (Perret & Aujard, 2006) mais également de l'excrétion journalière de mélatonine, une hormone régulant les rythmes biologiques (Aujard *et al.*, 2001). Chez les microcèbes âgés, le profil journalier d'excrétion urinaire de mélatonine est altéré. Ces animaux ne présentent plus en effet de pic journalier d'excrétion de cette hormone, contrairement aux animaux jeunes, ce qui expliquerait en partie l'altération des rythmes biologiques.

Accélération artificielle des rythmes saisonniers

Les rythmes biologiques très marqués exprimés par le microcèbe incluent l'expression de rythmes saisonniers qui peuvent être modifiés en laboratoire et en particulier être accélérés. L'accélération à long terme des rythmes saisonniers est une démarche expérimentale consistant à réduire artificiellement la durée des saisons. Le climat tropical de Madagascar se divise en deux saisons de six mois : l'été, caractérisé par une durée de jour longue (environ 13 h de lumière par jour), et l'hiver, caractérisé par une durée de jour courte (environ 11 h de lumière par jour). En captivité, il est possible de réduire la durée des saisons et de déterminer l'impact d'un tel changement sur la survie et la longévité des animaux. Pour ce faire, les animaux sont exposés à cinq mois de jours longs (été), suivis de trois mois de jours courts (hiver). Un cycle complet été/hiver se déroule donc sur huit mois au lieu de 12. Chez l'ensemble des animaux soumis à cette accélération des saisons depuis la naissance, la durée de vie moyenne est réduite de 30 % comparativement aux animaux élevés en cycle naturel (Perret, 1997 ; figure 3A). Ce raccourcissement des rythmes saisonniers s'accompagne en outre de perturbations des rythmes biologiques similaires à celles observées chez des animaux âgés en cycle naturel (perturbation des rythmes d'activité locomotrice, de la production de mélatonine et de la réponse à la lumière) (Aujard

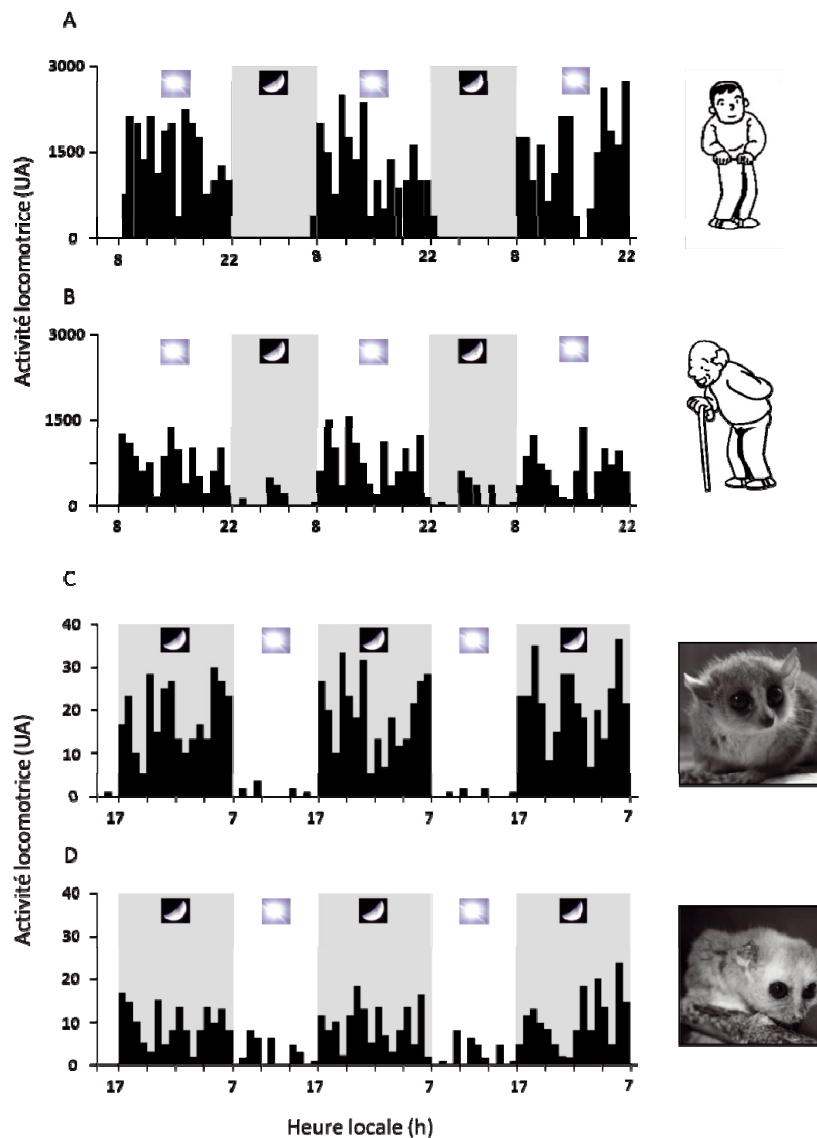


Fig. 2. A, B (d'après Huang *et al.*, 2002). Profils journaliers de l'activité locomotrice (barres noires, en unités arbitraires d'activité locomotrice, UA) chez un homme adulte entre 30 et 40 ans (A), chez un homme âgé de plus de 60 ans (B). C, D. Profils journaliers de l'activité locomotrice chez un microcèbe adulte de 3 ans (C) et chez un microcèbe âgé de 7,5 ans (D). Le vieillissement s'accompagne d'une fragmentation et d'une baisse d'amplitude des rythmes. Les périodes nocturnes, correspondant à la phase de repos chez l'Homme et d'activité chez le microcèbe, sont représentées sur fond gris.

Crédit photos microcèbes : Éric Guéton-UMR CNRS/MNHN 7179.

et al., 2001; Cayétanot *et al.*, 2005). Toutefois, si l'on considère le nombre de cycles saisonniers auxquels sont soumis les animaux (un cycle = un été + un hiver) plutôt que leur âge chronologique réel, leur durée de vie moyenne en saison accélérée est de 5 cycles et leur survie maximale atteint 9 à 10 cycles, ce qui est tout à fait comparable à ce qui est observé chez des animaux en cycle naturel (Perret, 1997; figure 3B).

L'ensemble de ces observations suggère que, chez le microcèbe comme chez les autres mammifères saisonniers, la longévité dépend plus du nombre de cycles saisonniers que de l'âge biologique. En photocycles accélérés, l'horloge biologique serait donc soumise à une usure précoce due à l'accélération de l'alternance des rythmes, un phénomène qui pourrait jouer un rôle clé dans le processus de vieillissement.

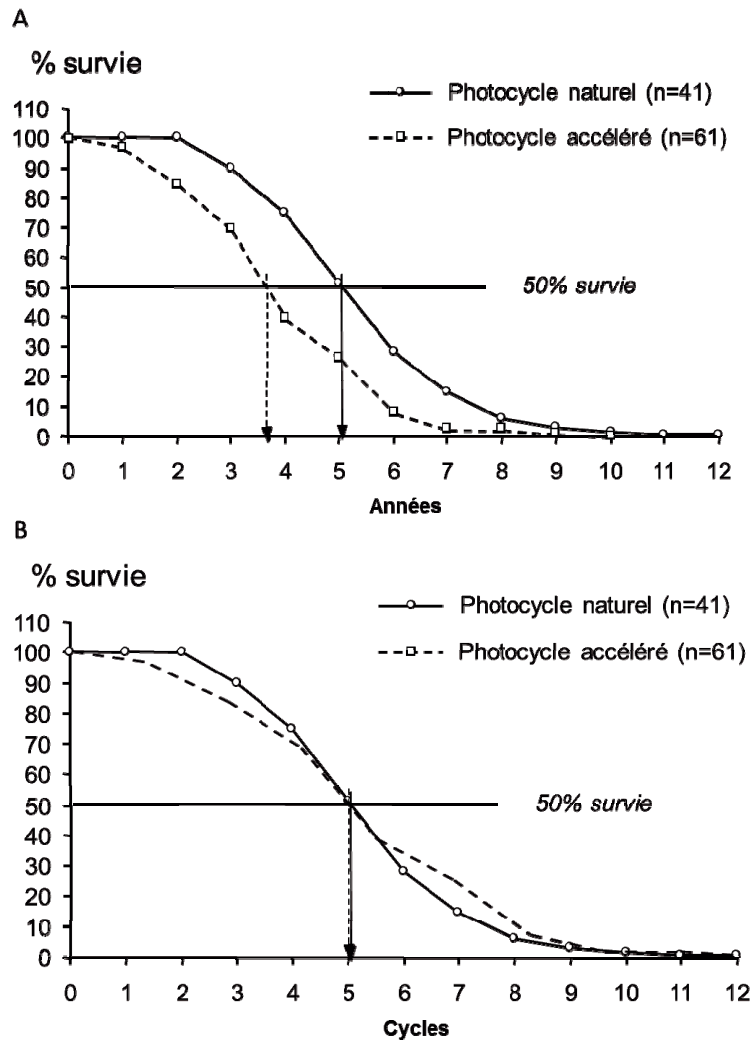


Fig. 3. Survie (%) de cohortes d'animaux exposées au photocycle naturel ($n = 41$, trait plein) ou au photocycle accéléré ($n = 61$, trait pointillé). La figure 3A représente la survie exprimée en fonction des années chronologiques vécues, la figure 3B représente cette même survie exprimée en fonction du nombre de cycles saisonniers vécus.

L'hypothèse inverse – un allongement de la durée des saisons conduirait à un allongement de la longévité – a été testée au laboratoire. Lorsque la saison dépasse la durée naturelle (plus de six mois), les animaux semblent échapper à l'entraînement lumineux. Cet échappement est illustré par le suivi du poids corporel et de la taille des testicules des mâles (figure 4). En cycle 40/40 (alternance de deux saisons de 40 semaines chacune), les cycles de masse corporelle et de fonction reproductive sont perturbés (pas de rythme de poids régulier et allongement de la période d'activité sexuelle). Les mâles échappent partiellement à l'entraînement par la photopériode en raison de la présence de phases réfractaires à l'induction du signal lumineux. Les femelles placées en cycle 40/40 expriment les mêmes perturbations du cycle de poids

corporel et surtout un allongement de la période de reproduction avec même présence de gestations en photopériode courte. Alors que le raccourcissement des saisons conduit à une accélération du vieillissement, l'allongement des saisons ne conduit pas à un ralentissement du vieillissement.

Conclusions

Il semble donc exister des relations étroites entre vieillissement, rythmes biologiques et longévité. D'une part le vieillissement (et notamment des fonctions cérébrales) semble altérer le fonctionnement de l'horloge, ce qu'illustrent les données d'altération des rythmes chez les sujets âgés, mais l'horloge, à travers

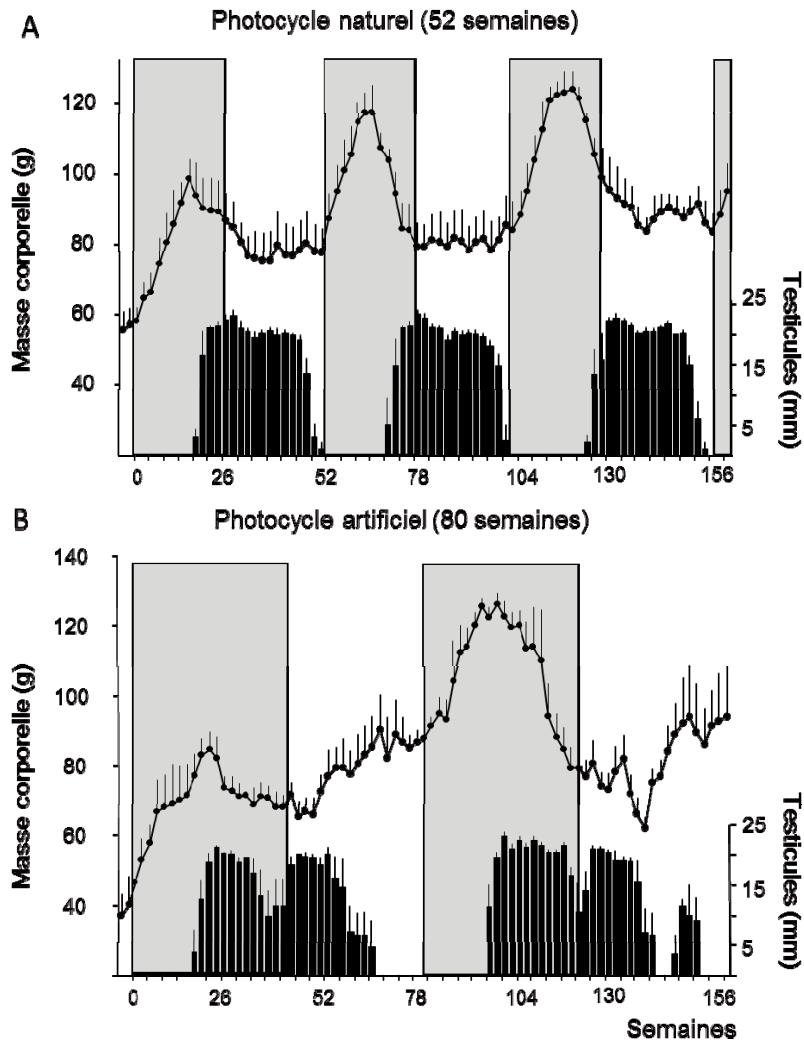


Fig. 4. Suivi du poids corporel (en g) et de la taille des testicules (en mm) de mâles au cours du photocycle naturel (A ; 2 saisons de 26 semaines) et d'une expérience d'allongement de la photopériode (B ; 2 saisons de 40 semaines). Les zones grisées représentent les hivers, les zones sur fond blanc représentent les étés.

l'alternance des cycles saisonniers, pourrait être à l'origine du processus de vieillissement. Une dernière illustration du rôle majeur joué par l'horloge biologique dans le processus de vieillissement est apportée par la théorie de la résonance circadienne, qui propose que plus la période endogène d'un individu ou d'une espèce est proche de 24 h, plus sa longévité est grande. Ce phénomène pourrait s'expliquer par la dépense métabolique que représente le recalage quotidien de la période endogène sur la photopériode naturelle. Plus la période endogène est éloignée de 24 h, plus le recalage est coûteux. Cette hypothèse a été émise en 1972 par Pittendrigh et Minis à partir d'expériences réalisées chez des drosophiles soumises à des photopériodes plus ou moins proches de 24 h. Plus les pho-

topériodes étaient éloignées de 24 h, plus la longévité des drosophiles était altérée. Cette hypothèse a été confirmée en 2010 par les travaux de Wyse *et al.* et étendue aux mammifères, incluant des primates dont le microcèbe. Cette théorie illustre parfaitement le rôle central que peut jouer l'horloge biologique dans le processus de vieillissement. Ce phénomène empire avec le vieillissement ; en effet, d'une manière générale, les espèces nocturnes ont une période inférieure à 24 h qui se réduit avec l'âge, et inversement chez les espèces diurnes. Dans les deux cas, le vieillissement éloigne l'organisme de 24 h. Par voie de conséquence, plus on vieillit plus on doit investir pour se caler sur 24 h, entraînant d'autant plus l'organisme dans la spirale négative de l'altération de la longévité.

Références

- Aujard F., Dkhis-Benyahya O., Fournier I., Claustrat B., Schilling A., Cooper H.M., Perret M., Artificially accelerated aging by shortened photoperiod alters early gene expression (Fos) in the suprachiasmatic nucleus and sulfatoxymelatonin excretion in a small primate, *Microcebus murinus*. *Neuroscience*, 2001, 105, 403–412.
- Aujard F., Cayéтанot F., Bentivoglio M., Perret M., Age-related effects on the biological clock and its behavioral output in a primate. *Chronobiol Int*, 2006, 23, 451–460.
- Cayéтанot F., Bentivoglio M., Aujard F., Arginine-vasopressin and vasointestinal polypeptide rhythms in the suprachiasmatic nucleus of the mouse lemur reveal aging-related alterations of circadian pacemaker neurons in a non-human primate. *Eur J Neurosci*, 2005, 22, 902–910.
- Cayéтанot F., Deprez J., Aujard F., Calbindin D-28K protein cells in a primate suprachiasmatic nucleus: localization, daily rhythm and age-related changes. *Eur J Neurosci*, 2007, 26, 2025–2032.
- Génin F., Nibbelink M., Galand M., Perret M., Ambid L., Brown fat and nonshivering thermogenesis in the gray mouse lemur (*Microcebus murinus*). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 284, 811–818.
- Huang Y.L., Liu R.Y., Wang Q.S., Van Someren E.J., Xu H., Zhou J.N., Age-associated difference in circadian sleep-wake and rest-activity rhythms. *Physiol Behav*, 2002, 76, 597–603.
- Lavery W.L., How relevant are animal models to human ageing? *J R Soc Med*, 2000, 93, 296–298.
- Languille S., Blanc S., Blin O., Canale C.I., Dal-Pan A., Devau G., Dhenain M., Dorieux O., Epelbaum J., Gomez D., Hardy I., Henry P.Y., Irving E.A., Marchal J., Mestre-Francés N., Perret M., Picq J.L., Pifferi F., Rahman A., Schenker E., Terrien J., Théry M., Verdier J.M., Aujard F., The grey mouse lemur: a non-human primate model for ageing studies. *Ageing Res Rev*, 2012, 11, 150–162.
- Lieverse R., Van Someren E.J., Nielen M.M., Uitdehaag B.M., Smit J.H., Hoogendijk W.J., Bright light treatment in elderly patients with nonseasonal major depressive disorder: a randomized placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*, 2011, 8, 61–70.
- Perret M., Change in photoperiodic cycle affects life span in a prosimian primate (*Microcebus murinus*). *J Biol Rhythms*, 1997, 12, 136–145.
- Perret M., Aujard F., Daily hypothermia and torpor in a tropical primate: synchronization by 24-h light-dark cycle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 281, 1925–1933.
- Perret M., Aujard F., Aging and biological rhythms in primates. *Med Sci (Paris)*, 2006, 22, 279–283.
- Pittendrigh C.S., Minis D.H., Circadian systems: longevity as a function of circadian resonance in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1972, 69, 1537–1539.
- Stuart J.A., Page M.M., Plasma IGF-1 is negatively correlated with body mass in a comparison of 36 mammalian species. *Mech Ageing Dev*, 2010, 131, 591–598.
- Terrien J., Perret M., Aujard F., Gender markedly modulates behavioral thermoregulation in a non-human primate species, the mouse lemur (*Microcebus murinus*). *Physiol Behav*, 2010, 101, 469–473.
- Wyse C.A., Coogan A.N., Selman C., Hazlerigg D.G., Speakman J.R., Association between mammalian lifespan and circadian free-running period: the circadian resonance hypothesis revisited. *Biol Lett*, 2010, 6, 696–698.